



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ATIVIDADES MEDICINAIS DOS ISOTIOCIANATOS

Trabalho submetido por
Sara Filipa Coelho Cabrita
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Outubro de 2014



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ACTIVIDADES MEDICINAIS DOS ISOTIOCIANATOS

Trabalho submetido por
Sara Filipa Coelho Cabrita
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Mestre Ana Pintão

Outubro de 2014

AGRADECIMENTOS

Ao terminar este trabalho, é com enorme alegria e satisfação que aproveito para homenagear todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a sua concretização.

Em primeiro lugar, à minha Mãe, ao João, ao meu Pai e à Sílvia por todo o apoio que me deram para conseguir aqui chegar, pois sem eles, teria sido impossível.

Em segundo lugar, ao meu Irmão, por toda a força e apoio que me deu ao longo destes anos.

Em terceiro lugar, aos meus avós maternos e paternos por todas as palavras e gestos de carinho e conforto.

Em quarto lugar, mas não menos importante, ao meu namorado, Fábio Rebelo, agradeço o apoio, força, compreensão, paciência, amor e carinho que sempre me dedicou ao longo deste percurso académico.

Por fim, quero agradecer à minha Orientadora, Mestre Ana Pintão, por toda a sua dedicação e empenho disponibilizado na realização desta dissertação não esquecendo o Instituto pela excelente formação académica que me proporcionou, e ainda aos professores e colegas de curso.

RESUMO

A procura de novos agentes terapêuticos em compostos extraídos de plantas é cada vez mais investigada. De acordo com vários estudos epidemiológicos tem-se verificado que o consumo de plantas está associado a uma redução na incidência de cancro e vários compostos de origem vegetal tem demonstrado a capacidade de destruição de células cancerígenas *in vitro* e *in vivo*.

Os isotiocianatos são uma classe de compostos fitoquímicos que derivam da degradação enzimática dos glucosinolatos, sendo considerados metabolitos secundários muito promissores na prevenção e/ou tratamento de várias patologias. Ocorrem naturalmente na família *Brassicaceae*, estando presentes nos brócolos, na couve-flor, na couve-de-bruxelas, no agrião, no rabanete, na mostarda branca entre outras crucíferas.

Tanto os glucosinolatos como os isotiocianatos têm sido alvo de estudo há mais de meio século, devido ao facto de se ter verificado especial interesse nestes fitoquímicos após a descoberta dos efeitos na proteção contra o cancro do sulforafano, um isotiocianato muito abundante nos brócolos. Os mecanismos relacionados com a quimioproteção induzida pelos isotiocianatos encontram-se em investigação assim como os vários modos de ação destas moléculas sobre as células cancerígenas.

Vários isotiocianatos revelaram ainda possuir atividades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias.

Palavras-chave: compostos fitoquímicos, glucosinolatos, isotiocianatos, quimioprevenção, atividades medicinais.

ABSTRACT

The search for new therapeutically agents in compounds extracted from plants are more and investigated. According to several epidemiological studies it has been shown that the consumption of plants is associated to a reduction of cancer incidence and various compounds from a vegetal origin have demonstrated a capacity for the destruction of cancer cells *in vitro* and *in vivo*.

The isothiocyanates are a class of phytochemical compounds that derive from the enzymes' degradation of the glucosinolates, and they are considered very promising secondary metabolites in the prevention and/or treatment of several pathologies. They appear naturally in the *Brassicaceae* family, being present in broccoli, cauliflower, Brussels sprouts, watercress, radish, white mustard, among other cruciferous.

Both the glucosinolates and the isothiocyanates have been studied for more than half a century, due to the fact of the special interest shown for these phytochemicals after discovering the effects in the protection against the sulforaphane cancer, a very common isothiocyanate found in broccoli. The mechanisms related to the chemoprotection induced by the isothiocyanates are under investigation, as well as, the several ways of action of these molecules in the cancer cells.

Several isothiocyanates have yet revealed to have antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory activities.

Keywords: phytochemical compounds, glucosinolates, isothiocyanates, chemoprevention, medicinal activities

ÍNDICE

RESUMO	5
ABSTRACT	6
ÍNDICE.....	7
ÍNDICE DE FIGURAS	8
ÍNDICE DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS.....	10
1. INTRODUÇÃO	12
1.1 Composição química dos Glucosinolatos e Isotiocianatos.....	14
1.2 Metabolismo dos Isotiocianatos.....	19
1.3 Modos de ação.....	20
1.4 Aplicações terapêuticas.....	23
2. ATIVIDADES MEDICINAIS DOS ISOTIOCIANATOS	25
2.1 Atividade Antimicrobiana.....	25
2.2. Atividade Quimioprotetora e Anticancerígena	27
2.2.1 Atividade Antiproliferativa	30
2.2.2 Indução da paragem do ciclo celular.....	32
2.2.3 Indução da Apoptose.....	34
2.2.4 Inibição da angiogénese	36
2.2.5. Inibição da desacetilação das histonas	38
2.2.6. Atividade Antioxidante	39
2.2.7. Atividade Anti-inflamatória	40
3. EFEITOS ADVERSOS E INTERAÇÕES DOS ISOTIOCIANATOS	41
CONCLUSÃO.....	42
BIBLIOGRAFIA	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Exemplos de crucíferas com isotiocianatos.....	12
Figura 2: Estrutura química dos glucosinolatos.....	14
Figura 3: Hidrólise de glucosinolatos e formação de isotiocianatos.....	16
Figura 4: Alguns dos isotiocianatos mais estudados com atividades terapêuticas.....	17
Figura 5: Metabolização dos isotiocianatos pela via do ácido mercaptúrico.....	19
Figura 6: Intervenção dos isotiocianatos na bioativação e desativação de substâncias cancerígenas	21
Figura 7: Ação dos isotiocianatos sobre vários mecanismos relacionados com o cancro	29

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Classes de glucosinolatos e respectivos produtos de hidrólise	15
Tabela 2: Efeito dos isotiocianatos na atividade antiproliferativa	32
Tabela 3: Efeito dos isotiocianatos na indução da paragem do ciclo celular	33
Tabela 4: Efeito dos isotiocianatos na indução da apoptose	35
Tabela 5: Efeito dos isotiocianatos na inibição da angiogénese	37

LISTA DE ABREVIATURAS

AITC- alil isotiocianato

AKT – proteína quinase B

ARE – elemento de resposta antioxidante

BITC – benzil isotiocianato

CYP450 – citocromo P450

DNA – ácido desoxirribonucleico

FDA – Food and Drug Administration

GLS – glucosinolatos

GST - glutathione S-transferase

HAT – histona acetil-transferase

HDAC – histona desacetil-transferase

HIF – fator de hipoxia induzível

I3C – indol-3-carbinol

ITC – isotiocianatos

MRPs – proteínas de multirresistência

NF-KB – fator pró-inflamatório nuclear kappa B

NO₂ – óxido nítrico

Oct 4 – fator de transcrição de ligação octâmero 4

PEITC- 2-feniletilisotiocianato

ROS – espécies reativas de oxigénio

SFN – sulforafano

SO₄²⁻ - ião sulfato

SoX₂ – fator de transcrição

TNF α – fator de necrose tumoral α

UGT – glucuronosil-transferase

VEGF- fator de crescimento vascular endotelial

γ -GT - γ - glutamil transferase

1. INTRODUÇÃO

Os isotiocianatos (ITC) são compostos fitoquímicos presentes em grande abundância sobretudo nas crucíferas. Estas plantas pertencem à família *Brassicaceae*, que possui cerca de 350 géneros e 3200 espécies, dentro dos quais se destacam os brócolos (*Brassica oleracea* var. *italica*), a couve branca (*Brassica oleracea* var. *capitata*), a couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), a couve-de-bruxelas (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*), o agrião (*Nasturtium officinalis*), a mostarda branca (*Sinapis alba*), a rúcula (*Eruca sativa*) e o rabanete (*Raphanus sativus*). Estes alimentos são cultivados e consumidos habitualmente na dieta por todo o mundo. (Manchali, Chidambara Murthy, & Patil, 2012; Wu, Zhou, & Xu, 2009).



Figura 1: Exemplos de crucíferas com isotiocianatos
(<http://bioquimicadocancer.blogspot.pt/2011/01/cruciferas.html>)

As crucíferas para além da presença de isotiocianatos são ricas em nutrientes, em carotenóides (β -caroteno, luteína e zeaxantina), em vitamina C, E e K, folatos e minerais (Latté, Appel, & Lampen, 2011).

Os efeitos de proteção contra o risco de cancro devem-se particularmente, às elevadas quantidades de glucosinolatos que as crucíferas possuem contrariamente aos outros vegetais (Abdull Razis & Noor, 2013).

De acordo com estudos epidemiológicos, verificou-se que existe uma correlação inversa entre o consumo de crucíferas e o risco de incidência de doenças crônicas, como a aterosclerose e o cancro (Overby, Zhao, & Chen, 2014).

Tendo em conta esta correlação inversa entre o consumo de crucíferas e a diminuição de ocorrência de determinadas patologias, a investigação está cada vez mais direcionada para a procura de compostos presentes em alguns vegetais, com o objetivo de descobrir novas moléculas com atividade biológica. (Padilha & Pinheiro, 2004).

Pretende-se com esta monografia, efetuar uma revisão da bibliografia atual sobre os isotiocianatos, dando maior ênfase às várias atividades medicinais destes compostos, na prevenção e/ou tratamento de doenças.

1.1 Composição química dos Glucosinolatos e Isotiocianatos

Os isotiocianatos (ITC) são compostos fitoquímicos obtidos através dos seus precursores os glucosinolatos (Natella, Maldini, Leoni, & Scaccini, 2014).

Os glucosinolatos (GSL) pertencem a uma família de moléculas caracterizadas por uma estrutura básica que contém uma β -D-glucopiranosose ligada a um átomo de enxofre, um grupo oxima sulfonado e ainda uma cadeia lateral -R derivada de diferentes aminoácidos (figura 2). Estão presentes em 16 famílias de espécies vegetais, existindo cerca de 120 estruturas diferentes identificadas em plantas (Overby *et al.*, 2014; Vig, Rampal, Thind, & Arora, 2009).

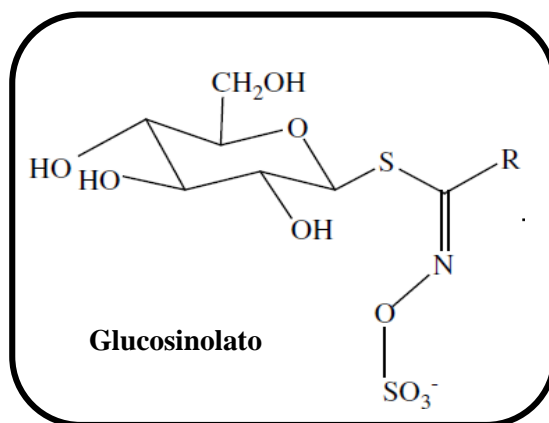


Figura 2: Estrutura química dos glucosinolatos (Adaptado de Vig *et al.*, 2009)

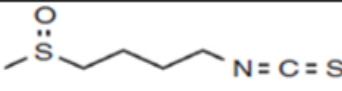
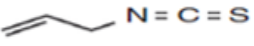
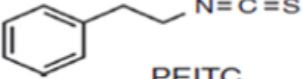
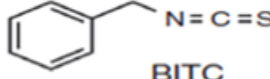
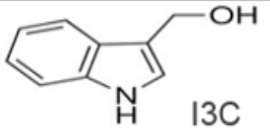
O teor de glucosinolatos presente nas crucíferas depende de vários fatores, como o clima, a variedade, a espécie, a cultura, o tipo de tecido e a idade fisiológica da planta (Latté *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2009).

Estes compostos encontram-se nas sementes, raízes, caules e folhas de plantas e são os principais responsáveis pelo aroma picante e sabor amargo de algumas crucíferas (Hayes, Kelleher, & Eggleston, 2008).

Os GLS podem ser classificados em alifáticos, aromáticos ou indólicos (Tabela 1) (Castro, Anjos, & Oliveira, 2008; Wu *et al.*, 2009).

É importante salientar, que os GSL por si só não são ativos, têm que ser convertidos em isotiocianatos para serem biologicamente ativos (Dosz, Ku, Juvik, & Jeffery, 2014).

Tabela 1: Classes de glucosinolatos e respectivos produtos de hidrólise (Adaptado de Aires *et al.*, 2009; Overby *et al.*, 2014).

Classes	Glucosinato precursor	Produto (ITC)
Alifático	Glucorafanina (4-Metilsulfinibutil glucosinato)	 SFN (Sulforafano)
Alifático	Sinigrina (2-propenil ou alil glucosinato)	 AITC (Alil isotiocianato)
Aromático	Gluconasturcina (2-feniletil glucosinato)	 PEITC (2-feniletilisotiocianato)
Aromático	Glucotropaeolina (2-benzil glucosinato)	 BITC (Benzil isotiocianato)
Indólico	Glucobrassicina (3-Indolmetil glucosinato)	 I3C (Indol- 3-carbinol)

Os isotiocianatos ocorrem através da hidrólise de glucosinolatos sob ação da enzima mirosinase (Gupta, Kim, Kim, & Srivastava, 2014). Esta enzima encontra-se presente na própria planta ou na microflora intestinal. Quando o tecido vegetal é rompido por corte e/ou danos, (preparação do alimento, mastigação ou digestão), os isotiocianatos são formados, pois há contato entre a enzima mirosinase e os glucosinolatos (Abbaoui, Riedl, Ralston, Thomas-ahner, & Steven, 2013).

A conversão de glucosinolatos em isotiocianatos ocorre na presença de água, havendo a libertação de uma molécula de glucose e de um intermediário aglicona ($R-C(-SH)=N-O-SO_3^-$) que se reorganizará, através da perda de um sulfato (SO_4^{2-}) para formar os isotiocianatos ou outros produtos como os nitróis, os nitrilos e os tiocianatos (Figura 3) (Hayes *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2009).

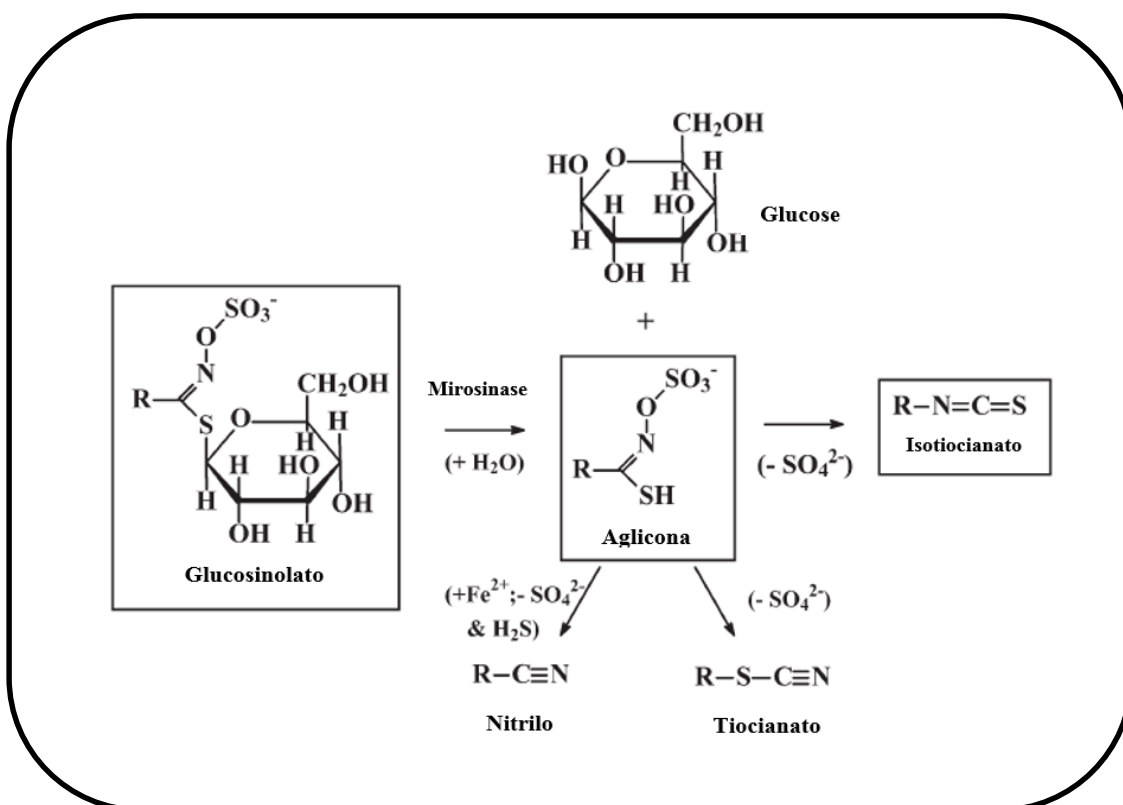


Figura 3: Hidrólise de glucosinolatos e formação de isotiocianatos (Adaptado de Wu *et al.*, 2009).

Existem mais de vinte derivados naturais e sintéticos de isotiocianatos (ITC), apresentando uma estrutura molecular genérica “-N=C=S” ligada a um radical -R variável, o qual determina a potência do ITC (Figura 4) (Overby *et al.*, 2014; Peng, Bao-an, & De-long, 2008; Wu *et al.*, 2009).

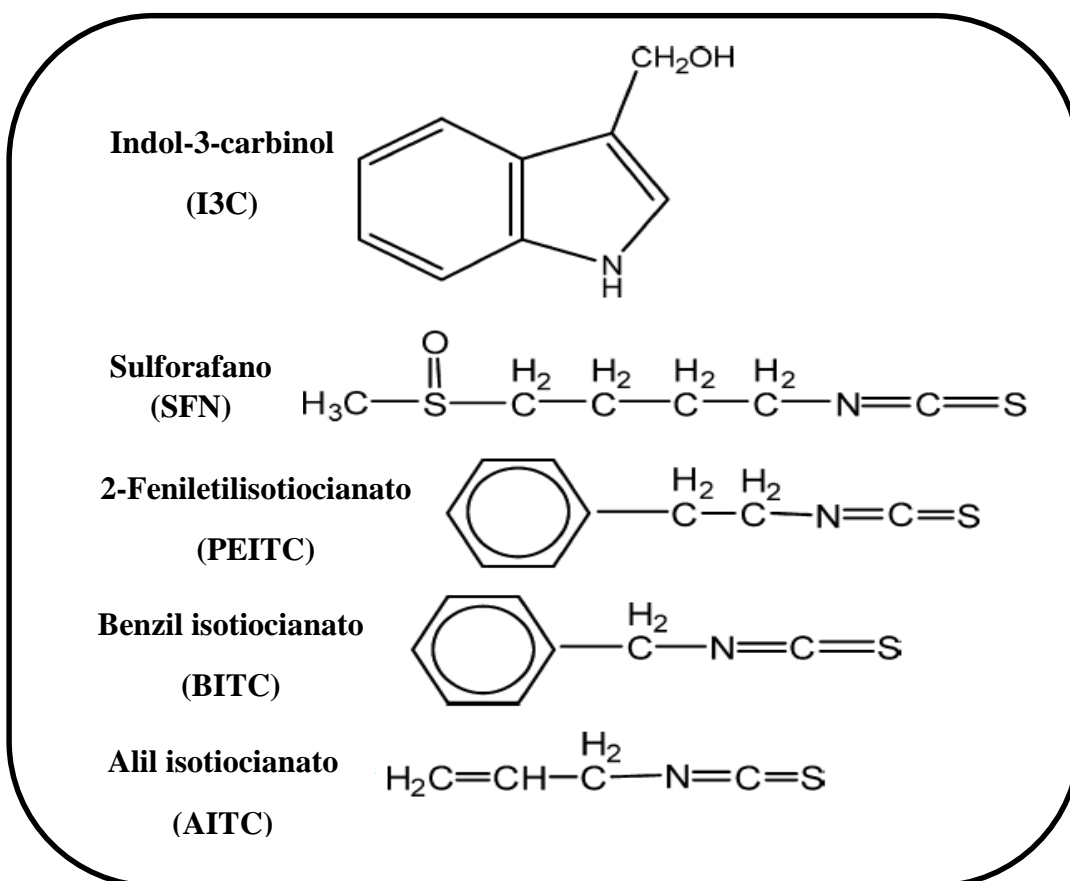


Figura 4: Alguns dos isotiocianatos mais estudados com atividades terapêuticas (Adaptado de Higdon, Delage, Williams, & Dashwood, 2007).

As crucíferas apresentam elevadas concentrações de GSL presente por exemplo no nabo (*Raphanus sativus L.*). Após a sua transformação em diversos metabolitos, entre eles, três isotiocianatos, identificados quimicamente em 3-butenil, 4-pentenil e o β -feniletilisotiocianato com um teor total entre 147 e 151 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ (Vieira, 2011).

O 2-fenilisotiocinato (PEITC) encontra-se presente em algumas crucíferas como o rabanete e o agrião, sendo que o agrião é considerado a fonte mais abundante de PEITC (Gupta *et al.*, 2014).

O alil isotiocianato (AITC) é o principal componente do óleo essencial de mostarda, obtido através da hidrólise enzimática dos glucosinolatos (Brown & Morra, 2005)

Os ITC são moléculas reativas e não específicas porque após a sua ingestão induzem vários eventos celulares ao longo do organismo (Overby *et al.*, 2014).

1.2 Metabolismo dos Isotiocianatos

Os ITC após ingestão são formados no interior do trato gastrointestinal (figura 5) ligando-se reversivelmente a tióis, compostos organossulfurados que contêm um grupo –SH. Após a sua ligação, são transportados por uma proteína plasmática para atravessar a membrana plasmática, por difusão passiva, entrando nas células dos tecidos. Já no interior das células os ITC vão reagir com a glutathione (GSH), formando o seu conjugado (S-(N-alquil/ariltiocarbamil)-glutathione) sendo esta reação catalisada pela enzima glutathione S-transferase (GST). O conjugado de glutathione é libertado para o exterior das células através de proteínas transportadoras ou MRPs “proteínas de multirresistência”. No meio extracelular, a glutathione conjugada com o γ -glutamyl e os resíduos de glicina, vão ser clivados pela enzima γ -glutamyl transferase (γ -GT) e pela dipeptidase dando origem a um conjugado de cisteína que vai ser transportado para o fígado. Por fim, o conjugado de cisteína sob ação da enzima N-acetil transferase transformar-se-á em ácido mercaptúrico. Após a formação do ácido mercaptúrico é então transportado para o rim, onde irá ser secretado para a urina e será eliminado (Zhang, 2012).

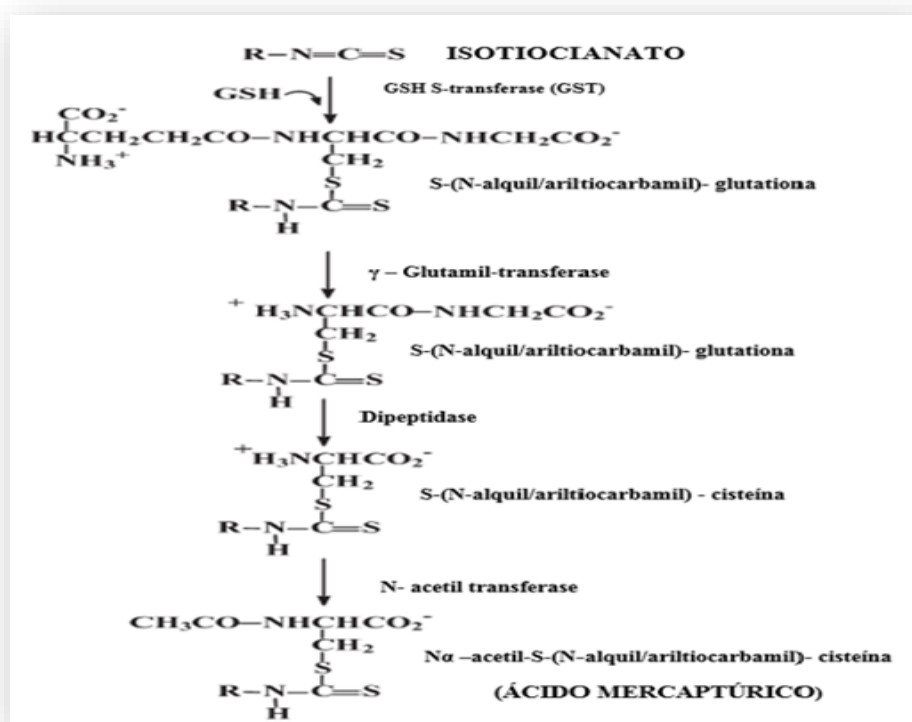


Figura 5: Metabolismo dos isotiocianatos pela via do ácido mercaptúrico (Adaptado de Wu *et al.*, 2009).

1.3 Modos de ação

Os humanos estão constantemente expostos a substâncias químicas cancerígenas, sendo uma das principais fontes a alimentação. Tanto os agentes químicos ambientais como os adquiridos na dieta sofrem um processo metabólico ao entrar no organismo. Após este processo é necessário impedir que estas se dispersem, de forma a prevenir o desenvolvimento de doenças (Ioannides, Hanlon, & Konsue, 2010; Padilha & Pinheiro, 2004).

Existem compostos fitoquímicos, como os ITC que inibem a ativação de substâncias carcinogênicas através do equilíbrio que proporcionam entre as enzimas de fase I, ativam a carcinogênese e as enzimas de fase II que promovem a desintoxicação, contribuindo assim para uma barreira protetora contra agentes exógenos (Zhang, 2012).

Os ITC são considerados agentes bloqueadores de produtos cancerígenos. Eles inibem as enzimas de fase I e induzem as enzimas de fase II. Para além disso, têm apresentado atividade quimiopreventiva sobre diversas neoplasias humanas, pois inibem a bioativação dos carcinogêneos na fase I (Vig, Rampal, Thind, & Arora, 2009).

As enzimas de fase I desempenham um papel preponderante no metabolismo de substâncias cancerígenas e de xenobióticos, isto é, compostos químicos estranhos ao organismo. Estas enzimas são catalisadas pelo citocromo P450 (CYP). Porém, durante o processo de metabolização ocorrem substâncias químicas que são ativadas e convertidas em metabolitos altamente reativos que vão desencadear danos no DNA, devido a alterações genéticas que surgem durante a divisão celular (Cartea & Velasco, 2007; Pappa *et al.*, 2006).

Por conseguinte, os metabolitos intermediários reativos podem induzir danos indiretamente no DNA, através da interação com uma molécula de oxigénio, gerando espécies reativas de oxigénio (ROS) que podem desenvolver danos no DNA ou então serem desativadas de forma a eliminar as substâncias cancerígenas (Figura 6) (Ioannides *et al.*, 2010; Padilha & Pinheiro, 2004).

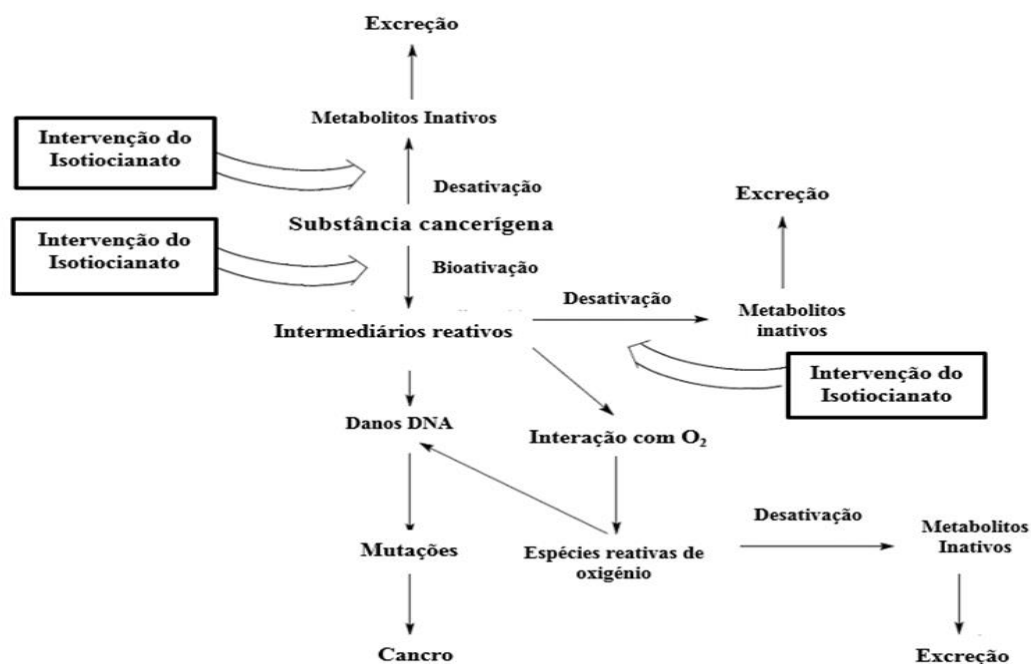


Figura 6: Intervenção dos isotiocianatos na bioativação e desativação de substâncias cancerígenas (Adaptado de Ioannides *et al.*, 2010).

Por outro lado, nas enzimas de fase II ocorrem reações de conjugação, ou seja, os xenobióticos provenientes da fase I vão-se ligar ao substrato endógeno no organismo, sendo depois excretados na bÍlis ou na urina. Ao ocorrer a indução de desintoxicação da GST (glutathione S-transferase) e a elevação da GSH (glutathione) os tecidos e as células ficam protegidos de agressões exógenas (Gupta *et al.*, 2014; Padilha & Pinheiro, 2004; Peng *et al.*, 2008).

Os isotiocianatos e indóis derivados da hidrólise dos glucosinolatos, mais concretamente o sulforafano (SFN) e o indol-3-carbinol (I3C), estão envolvidos numa variedade de mecanismos anticancerígenos. Contudo, os efeitos protetores das crucíferas, mais concretamente dos ITC, podem ser influenciados pela variabilidade genética individual sobre a metabolização e eliminação de isotiocianatos do organismo (Cardoso, Barrère, & Trovão, 2009).

Tem-se revelado uma correlação intrínseca entre a ingestão de frutas e vegetais e a redução do risco de vários tipos de cancro. Verificou-se que os ITC presentes nestes alimentos suprimem o crescimento do tumor por vários mecanismos como a formação de espécies reativas de oxigénio (ROS) ou pela imobilização do ciclo celular, levando as células à apoptose (Gupta *et al.*, 2014).

Os isotiocianatos para além de desempenharem as suas funções através das enzimas de metabolização, ainda podem ter uma ação epigenética (Gerhauser, 2013b).

Os eventos epigenéticos estão meramente relacionados com a adaptação estrutural das regiões cromossómicas, de forma a registar e a sinalizar a atividade da expressão genética, envolvida em todo o ciclo celular. O objetivo da ação epigenética é verificar se determinado gene é transcrito e traduzido na proteína correspondente. (McKay & Mathers, 2011). As modificações epigenéticas ocorrem como resposta a estímulos ambientais, sendo a alimentação um dos mais relevantes. No entanto, os mecanismos através dos quais a dieta afeta a epigenética, não estão completamente esclarecidos (Heijmans *et al.*, 2008).

A mensagem pode ser transmitida através de pequenas modificações químicas, reversíveis na cromatina. Por exemplo, a adição de grupos acetil (acetilação), aumenta a transcrição quando ligadas a proteínas do DNA. Por outro lado, adição de grupos metil a determinadas regiões reguladoras do próprio DNA, reduz a transcrição (Heijmans *et al.*, 2008). Existem alimentos com isotiocianatos, como os brócolos que contribuem para o aumento da acetilação das histonas (Gerhauser, 2013a).

As alterações epigenéticas estão envolvidas no desenvolvimento de muitas patologias, como o cancro e doenças neurológicas. As células tornam-se malignas, quando as modificações epigenéticas desativam genes supressores de tumores que impedem a proliferação celular (Esteller, 2007).

Tendo em conta que as modificações epigenéticas são reversíveis existe grande interesse em encontrar moléculas derivadas de fontes dietéticas com o intuito reverter o desenvolvimento de tumores (Esteller, 2007).

Foi verificado em ratos transgénicos que o BITC, quando adicionado na dieta, suprime o crescimento de células estaminais de tumores de mama inibindo também alguns dos seus marcadores como Oct 4, Sox2 e o gene Nanog (Gupta *et al.*, 2014).

1.4 Aplicações terapêuticas

O consumo de isotiocianatos através da dieta, está diretamente relacionado com a diminuição do risco de determinados tipos de cancro, incluindo pulmão, esófago, mama, próstata, fígado, intestino e a bexiga. Para além de atuar como quimiopreventivo, também pode atuar como tratamento antineoplásico (Singh & Singh, 2012).

O sulforafano (SFN) é um dos isotiocianatos mais estudados, pelo facto de possuir capacidade de modular o metabolismo das substâncias cancerígenas, assim como contribuir para a proteção contra o stress oxidativo. Este composto fitoquímico, encontra-se presente em grande abundância nos brócolos (Figueiredo, Filho, Nogueira-Machado, & Caligorne, 2013). Verificou-se que o sulforafano presente nos brócolos atua na prevenção e na regressão da forma mais comum de artrite, a osteoartrite (Davidson *et al.*, 2013).

O alil isotiocianato (AITC) é bastante utilizado na indústria alimentar como conservante, sendo considerado seguro pelo órgão de Administração de Drogas e Alimentos (FDA) (Dhingra, Costa, Silva, & Mizubuti, 2004).

Outros isotiocianatos como, o benzil isotiocianato (BITC), presente no mamão e o 2-feniletilisotiocianato (PEITC) presente no agrião, apresentam propriedades que impedem o crescimento e a desordem das células cancerígenas. Para além disso, o BITC também é utilizado no tratamento de infeções do trato respiratório e urinário (Castro *et al.*, 2008; Vig *et al.*, 2009). A utilização de suplementos dietéticos, nutracêuticos e alimentos funcionais, regista um aumento significativo, no entanto, é necessário ter em conta, não só os benefícios mas também eventuais riscos associados, de forma a assegurar a sua eficácia e segurança (Liu, 2004).

No mercado existem vários suplementos que contêm extratos de brócolos, como por exemplo, o Brocolinol 500mg (cápsulas) que é vendido sem prescrição. De acordo com a informação este produto apresenta elevada composição de antioxidantes e anticancerígenos. O isotiocianato presente neste suplemento é o sulforafano, sendo a sua principal função atuar como antioxidante e estimular as enzimas de desintoxicação de forma a eliminar as substâncias cancerígenas. Para além disso, auxilia no combate à hipertensão arterial e na proteção dos olhos contra a degeneração macular, devido à sua atividade antioxidante. No entanto, a sua biodisponibilidade ainda não é conhecida, sendo necessário mais estudos para comprovar a sua eficácia (“Brocolinol 500mg (cápsulas),” n.d.).

O Menoless é um nutracêutico de venda livre no Brasil, que contém uma combinação sinérgica de brocolinol, um extrato rico em indol-3-carbinol e sulforafano. Ambos os isotiocianatos acima mencionados têm sido estabelecidos como antioxidantes e anticancerígenos. Este suplemento dietético é também rico em fibras, vitaminas e minerais sendo alegado que atua sobre o stress oxidativo e neoplasias (Idealfarma, n.d.).

2. ATIVIDADES MEDICINAIS DOS ISOTIOCIANATOS

Os glucosinolatos (GSL) e os seus produtos de hidrólise os isotiocianatos (ITC) são os principais responsáveis por inúmeras atividades terapêuticas. (Borges, Simões, Saavedra, & Simões, 2014).

Este capítulo incidirá nas várias atividades dos isotiocianatos, sendo que as atividades mais aprofundadas serão a quimioprotetora e a anticancerígena devido ao facto de ser uma área muito investigada (Gupta *et al.*, 2014).

2.1 Atividade Antimicrobiana

A resistência antimicrobiana é um dos maiores problemas da atualidade. Deve-se principalmente ao uso extremo e inadequado de antibióticos. Como tal, a procura de novos agentes antimicrobianos de origem natural é fundamental para o combate dos microrganismos.

Eunyoung & Gun-Hee (2008) investigaram o efeito antimicrobiano do 2-feniletilisotiocianato (PEITC) contra várias estirpes de bactérias, tais como: *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e a *Salmonella choleraesuis* pelo método de difusão do disco. Verificou-se, que o PEITC não produziu qualquer atividade sobre a *Salmonella choleraesuis*. Por outro lado, manifestou forte atividade contra o *Vibrio parahaemolyticus* e o *Staphylococcus aureus* com alos de inibição de 20 mm. No *Bacillus cereus* o ITC produziu menor atividade com um alo de inibição entre 10-15 mm.

A infeção bacteriana com *H.pylori* está diretamente relacionada com o aumento acentuado em desenvolver cancro gástrico (Normark, Nilsson, Normark, & Hornef, 2003). Foram analisados *in vitro* onze ratinhos transplantados com tecido gástrico humano infetado com *H. pylori*, verificando-se que em oito dos onze ratinhos a infeção foi suprimida com a administração de sulforafano (Haristoy, Angioi-Duprez, Duprez, & Lozniewski, 2003).

O sulforafano (SFN) atua sobre a *Helicobacter pylori* sendo considerado um isotiocianato bacteriostático e bactericida sobre múltiplas estirpes de *Helicobacter pylori*, incluindo estirpes resistentes a antibióticos (Dinkova-Kostova & Kostov, 2012; Fahey *et. al*, 2002).

Wilson *et al.* (2013) verificaram a eficácia de vários ITC de crucíferas como agentes antimicrobianos tendo concluído que as bactérias Gram negativas são mais sensíveis aos ITC do que as bactérias gram-positivas e que para além disso, dentro do mesmo tipo de Gram existem variações significativas na sensibilidade entre espécies.

Relativamente à atividade antifúngica, provou-se que os glucosinolatos e os respetivos produtos de hidrólise, os isotiocianatos, também controlam o crescimento de fungos. O alil isotiocianato (AITC), presente no óleo da mostarda, mostrou atividade antifúngica sobre vários fungos e leveduras, entre os quais o *Aspergillus flavus*, *Pichia anomala*, *Penicillium commune*, entre outras espécies do género *Penicillium* (Zhang, 2010).

2.2. Atividade Quimioprotetora e Anticancerígena

Atualmente a população está cada vez mais direcionada para a prevenção da carcinogénese com o intuito de reduzir a incidência e morte por cancro. Como tal, estratégias preventivas podem ser eficazes, devido ao facto da maioria das neoplasias malignas estarem relacionadas com fatores fisiológicos e dietéticos (Padilha & Pinheiro, 2004).

Dentro das estratégias preventivas, destaca-se a quimioprevenção, como uma opção terapêutica de forma a prevenir e interromper a génese do cancro. Os isotiocianatos atuam preferencialmente sobre mecanismos de ação anticarcinogénicos, como antioxidantes, anti-inflamatórios, influenciando o teor de estrogénios, como anti-angiogénicos entre outros (Padilha & Pinheiro, 2004).

Os primeiros estudos centravam-se principalmente na prevenção da formação de células cancerígenas através de ITC, isto é, a inibição da carcinogénese. Atualmente, os ITC são testados sobretudo na supressão e na inibição da proliferação de células cancerígenas (Zhang, Yao, & Li, 2007).

O indol-3-carbinol (I3C) possui propriedades hepatoprotetoras e anticancerígenas, produzindo efeitos na redução do cancro da mama, próstata e ovário (Aggarwal & Ichikawa, 2005).

Os brócolos têm sido valorizados pelo seu sabor, assim como pelo efeito quimiopreventivo. Estas características são atribuídas à presença de glucosinolatos e isotiocianatos (Dinkova-Kostova & Kostov, 2012). O sulforafano (SFN), presente nos brócolos, assim como o 2-feniletilisotiocianato (PEITC) presente no agrião, têm sido considerados potentes agentes quimiopreventivos. A eficácia destes isotiocianatos na inibição do desenvolvimento de tumores tem sido demonstrada em ratinhos transgénicos com cancro induzidos com substâncias cancerígenas (Gerhauser, 2013b; Murillo & Mehta, 2001).

O indol-3-carbinol (I3C), presente em várias crucíferas, como os brócolos, pode modificar o metabolismo do estrogénio, fator determinante da incidência de cancro de mama (Gerber, Müller, Reimer, Krause, & Friese, 2003). Por outro lado, verificou-se uma redução de 39% no risco de cancro da bexiga, com o consumo de mais de duas porções de brócolos por semana (Abbaoui *et al.*, 2013).

Packman (2010) demonstrou que o agrião tem capacidade de suprimir o desenvolvimento de células cancerígenas da mama. Mais concretamente o 2-fenilisotiocianato (PEITC), presente no agrião mostrou bloquear o processo, interferindo e “desligando” a função de uma proteína chamada fator de hipoxia induzível (HIF).

Num ensaio clínico, com uma pequena amostra, os participantes ingeriram 80g de agrião em jejum e de seguida forneceram uma série de amostras de sangue, durante as 24 horas seguintes. Detetou-se níveis significativos de PEITC no sangue dos participantes e mostrou a função da proteína HIF foi afetada (Packman, 2010).

Têm sido efetuados vários estudos com o objetivo de se verificar a relação existente entre o consumo de crucíferas e o cancro de mama. De acordo com Mateus (2012), num ensaio epidemiológico de grande dimensão, realizado com 4886 mulheres que consumiam crucíferas durante 36 meses, foi verificado que as com maior consumo diário apresentavam uma taxa de redução de risco de mortalidade de 62% e de recidiva de cancro de mama de 35%.

Os isotiocianatos, mais concretamente o 2-feniletilisotiocianato (PEITC), o benzil isotiocianato (BITC), o alil isotiocianato (AITC) e o sulforafano (SFN), são compostos fitoquímicos muito investigados tanto para fins quimiopreventivos como quimioterápicos. Atuam sobre múltiplas vias: inibição do crescimento, na inibição da proliferação de células cancerígenas, na indução da apoptose, na inibição da angiogénese, na inibição do ciclo celular e ainda sobre a formação de metástases (Gupta *et. al*, 2014). Porém, os mecanismos com maior interesse atualmente são: a indução da apoptose e a inibição do ciclo celular devido ao facto de ambos atuarem tanto como quimiopreventivos como quimioterápicos (Figura 7) (Gerhauser, 2013b).

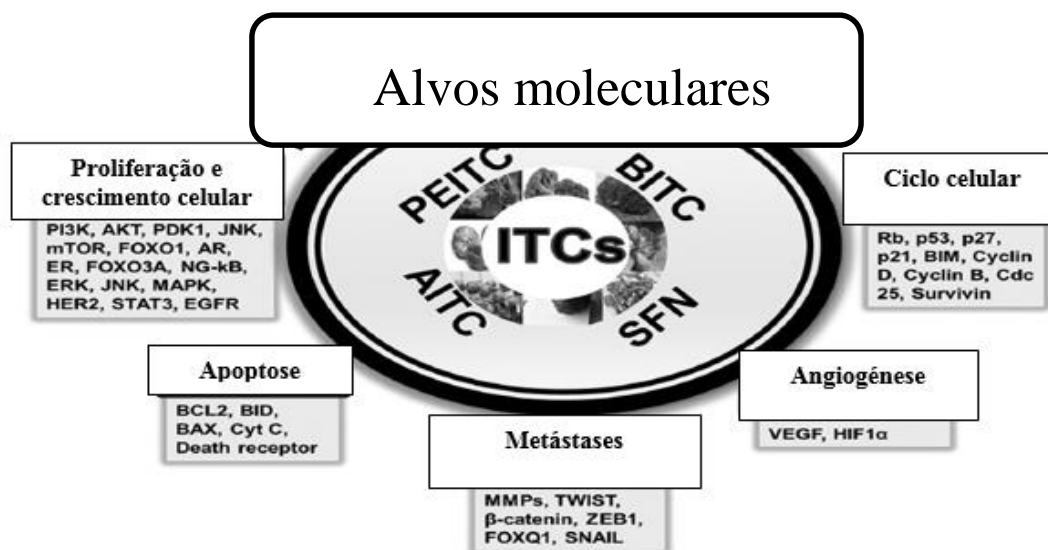


Figura 7: Ação dos isotiocianatos sobre vários mecanismos relacionados com o cancro (Adaptado de Gupta *et al.*, 2014).

Numerosos estudos pré-clínicos *in vitro* e *in vivo* em vários tipos de cancro demonstraram os efeitos anticancerígenos dos ITC. Os ITC suprimem o crescimento de tumores, quer por originarem ROS quer por induzirem a paragem do ciclo celular levando à apoptose celular. Baseados nestes resultados alguns isotiocianatos têm chegado à fase clínica (Gupta *et al.*, 2014).

Os resultados pré-clínicos e dos ensaios clínicos já disponíveis sugerem que os ITC são dos mais promissores agentes anticancerígenos de origem natural disponíveis atualmente, com efeitos tanto na prevenção como na terapia do cancro (Gupta *et al.*, 2014).

De seguida, são detalhados alguns dos ensaios efetuados com as mais importantes atividades dos ITC.

2.2.1 Atividade Antiproliferativa

Numerosos estudos têm descrito os efeitos inibidores dos isotiocianatos (ITC) sobre o crescimento de células cancerígenas, tanto em animais como em humanos. A maioria destes estudos têm demonstrado uma inibição do crescimento celular com concentrações micromolares de ITC. Verificou-se que a sua atividade não é específica para determinadas células, mas mais seletiva para células malignas ou transformadas do que para células normais (Gupta *et al.*, 2014).

Pintão, Pais, Coley, Kelland, & Judson, (1995) verificaram *in vitro*, pela primeira vez que o BITC demonstrava atividade citotóxica, em concentrações entre 0,86 e 9,4 μ M, para quatro linhas celulares de carcinoma de ovário, uma linha de tumor de pulmão humano e ainda para células de leucemia e plasmocitoma de rato. Nos ensaios realizados *in vivo* não provocou a redução de um plasmocitoma subcutâneo mas foi bem tolerado pelos ratos pois apresentava valores de toxicidade apenas a partir de 200mg/kg.

Gupta *et al.*, (2014) demonstraram que o BITC é bem tolerado em ratinhos numa dose de 12 μ mol/dia (72 μ g/kg) e que o crescimento do tumor é marcadamente diminuída em xenografias de ratos sem tino, reduzindo o volume dos tumores em 48% quando comparados com os controlos, após 6 semanas de tratamento oral com 12 μ mol/dia. Foi demonstrado igualmente uma boa biodisponibilidade do BITC e que a concentração terapêutica pode ser conseguida *in vivo* por administração oral e não é toxica.

De acordo com Gupta *et al.*, (2014) um estudo recente, demonstrou que a absorção e a biodisponibilidade do BITC pode ser conseguida com nanoemulsões do composto.

Singh *et.al*, (2005) estudaram a hipótese do sulforafano (SFN) atuar sobre as células malignas do pâncreas *in vivo*. Tendo-se verificado, que com a administração de uma dose entre 0-20 mg/kg em ratinhos durante um período de seis semanas, as células cancerígenas foram suprimidas pelo sulforafano.

Xu *et.al*, (2006) estudaram a hipótese de o AITC produzir atividade sobre células cancerígenas do intestino. Constataram num ensaio *in vitro*, que houve supressão do tumor após 24h de contacto com uma dose de 12 μ M.

Hwang *et al.*, (2006) verificaram que o PEITC inibiu a proliferação e disseminação de células hepáticas cancerígenas *in vitro* com uma dose entre 0,1 e 5 μ M durante 24 horas.

Kumar *et al.*, (2009) realizaram um estudo *in vitro* com o objetivo de analisar o efeito do alil isotiocianato (AITC) sobre células hepáticas cancerígenas implantadas em ratinhos. Verificou-se então, que o AITC com uma dose entre 0,1-5 μ M durante 24 horas produzia atividade antimetastática através da supressão e inibição da invasão do tumor.

Wu *et al.*, (2010) investigaram em ratinhos a atividade do BITC na supressão e invasão do cancro do pulmão, verificando-se que com uma dose de BITC de apenas 5 μ M durante 24 horas, as células não proliferaram.

Gupta *et al.* (2014) demonstraram a eficácia do SFN na proliferação e metástases de cancro da mama. Os estudos farmacocinéticos realizados em mama e intestino delgado em humanos mostraram uma boa biodisponibilidade após administração oral de SFN o que é vantajoso para o futuro como agente anticancerígeno.

Nos estudos efetuados com SFN, em ratinhos, os indicadores de hepatotoxicidade são contraditórios e inconclusivos (Gupta *et al.*, 2014).

Tabela 2: Efeito dos isotiocianatos na atividade antiproliferativa (Adaptado de Gupta *et al.*, 2014).

Compostos	Atividade	Células	Ensaio	Dose/Duração	Autor
AITC	Antiproliferativa	Fígado	<i>In vitro</i>	0,1 – 5 µM/24H	Kumar <i>et al.</i> , (2009)
AITC	Antiproliferativa	Intestino	<i>In vitro</i>	12µM/24H	Xu <i>et al.</i> , (2006)
PEITC	Antiproliferativa	Fígado	<i>In vitro</i>	0,1 – 5 µM/24H	Hwang <i>et al.</i> , (2006)
SFN	Antiproliferativa	Pâncreas	<i>In vivo</i>	0 – 20 mg/kg 6 semanas	Singh <i>et al.</i> , (2005)
BITC	Antiproliferativa	Pulmão	<i>In vitro</i>	5 µM/24H	Wu <i>et al.</i> , (2010)
BITC	Antiproliferativa	Pulmão, Ovário, Leucemia	<i>In vitro</i>	0,86 – 9,4µM	Pintão <i>et al.</i> , (1995)

2.2.2 Indução da paragem do ciclo celular

Quando o DNA é danificado, ocorre a paragem do ciclo celular em determinadas fases do ciclo, como a G1/S ou G2/M para que os erros possam ser corrigidos. Caso o dano provocado seja irreversível, a célula irá ativar as vias que vão conduzir à apoptose ou então promover mutações que podem levar ao desenvolvimento de cancro (Molina-vargas, 2013; Stewart, Westfall, & Pietenpol, 2003)

Os isotiocianatos são compostos capazes de regular o ciclo celular e inibir a sua proliferação, sendo essenciais na quimioprevenção (Zhang, 2012). Verificou-se que o BITC, PEITC e o SFN são eletrófilos que se ligam covalentemente a certos resíduos de cisteína em tubulina, proteínas constituintes dos microtúbulos induzindo a paragem do ciclo celular (Molina-vargas, 2013).

Hwang *et al.*, (2006) investigaram *in vivo* a eficácia do AITC sobre o cancro da próstata. Com uma dose de 10µmol de AITC durante 26 dias o tumor regrediu, através da inibição da fase G2 do ciclo celular, uma vez que é nesta fase do ciclo celular que ocorre a replicação de células (tabela 3).

Saw *et al.*, (2011) demonstraram que o PEITC inibiu as células cancerígenas da próstata com uma dose de 8µmol/g após 9 semanas, através da indução da apoptose e paragem do ciclo celular.

Suppipat *et al.*, (2012) investigaram *in vitro* a atividade do SFN em células cancerígenas do intestino, verificando-se que após a exposição de 15µM durante um dia, estas células sofrem paragem do ciclo celular e apoptose impedindo assim a sua multiplicação e invasão para os outros tecidos.

Tabela 3: Efeito dos isotiocianatos na indução da paragem do ciclo celular (Adaptado de Gupta *et al.*, 2014).

Compostos	Atividade	Células	Ensaio	Dose/Duração	Autor
AITC	Paragem do ciclo celular	Próstata	<i>In vivo</i>	10 µmol/ 26 dias	Hwang <i>et al.</i> , (2006)
PEITC	Paragem do ciclo celular	Próstata	<i>In vivo</i>	8 µmol/g /9 semanas	Saw <i>et al.</i> , (2011)
SFN	Paragem do ciclo celular	Intestino	<i>In vitro</i>	15 µM/ 24H	Suppipat <i>et al.</i> , (2012)

2.2.3 Indução da Apoptose

A apoptose ou morte celular programada é um processo que ocorre quando as células deixam de produzir as suas atividades ou são danificadas, sendo removidas do organismo de forma a manter o seu bom funcionamento. A desregulação da apoptose pode desencadear várias doenças, como o cancro ou doenças auto-imunes (Molina-vargas, 2013).

É importante realçar, que as células cancerígenas ao contrário das células normais proliferam rapidamente e perdem a capacidade de responder aos sinais de morte celular, durante o início da apoptose (Nakamura & Miyoshi, 2006).

De uma maneira geral, a apoptose é dividida em duas vias distintas: a via extrínseca (recetores de morte) e a via intrínseca (mitocondrial). Dependendo do estímulo, a apoptose pode ser iniciada por uma via ou por outra (Molina-vargas, 2013).

Os principais executores da apoptose são as caspases, sendo que algumas das marcas da apoptose são as histonas citoplasmáticas ligadas a fragmentos de DNA, a clivagem de poli (ADP-ribose) polimerases (PARP), alterações nas conformações de proteínas Bcl-2, isto é, proteínas pró-apoptóticas aumentadas e anti-apoptóticas diminuídas, e ainda a libertação do citocromo c da membrana mitocondrial (Wu *et al.*, 2009).

Os isotiocianatos regulam a apoptose através da libertação mitocondrial do citocromo c, regulação da família Bcl-2, sendo estas últimas proteínas de membrana que impedem a apoptose antecipada; sinalização MAPK isto é, proteínas que são ativadas com o objetivo de responder a estímulos extracelulares de forma a regular as atividades da expressão genética, proliferação, diferenciação e apoptose; de seguida ocorre a ativação das caspases pelo facto de estas serem responsáveis pela iniciação e execução da apoptose (Wu *et al.*, 2009).

A apoptose é um mecanismo valioso na proteção da carcinogénese pois impede que as células mutadas se mantenham no organismo e se multipliquem (Molina-vargas, 2013).

Batra *et al.*, (2010) demonstraram o efeito anticancerígeno *in vitro* do benzil isotiocianato (BITC) na inibição do crescimento do tumor pancreático. O BITC mostrou atividade ao fim de 24 horas, com uma dose de 10µM, através da inibição de moléculas expressas no cancro, como a proteína quinase B (AKT), transdutor de sinal e ativador da transcrição 3 e o fator nuclear kappa B (NF-KB), induzindo as células à apoptose.

De acordo com Zhu *et al.*, (2013) o BITC atua sobre células cancerígenas formadas no cérebro, através da geração de espécies reativas de oxigénio (ROS) que vão induzir a apoptose celular.

Gupta & Srivastava (2012) analisaram em simultâneo, *in vitro* e *in vivo*, a atividade do 2-feniletilisotiocianato (PEITC) sobre o cancro da mama. Num estudo *in vitro*, verificou-se que a exposição das células a 10 µM de PEITC durante 1 dia induziu a apoptose das células sendo que *in vivo*, uma dose de 12 µM, administrada durante um período de 33 dias para originar igualmente apoptose das células.

Li *et.al.*, (2013) demonstraram *in vitro*, que o sulforafano atuou sobre as células cancerígenas presentes na próstata, através da administração de 20µM durante vinte e quatro horas, induzindo as células em apoptose.

Tabela 4: Efeito dos isotiocianatos na indução da apoptose (Adaptado de Gupta *et. al.*, 2014).

Compostos	Atividade	Células	Ensaio	Dose/Duração	Autor
BITC	Apoptose	Pâncreas	<i>In vitro</i>	10 µM /24H	Batra <i>et al.</i> , (2010)
BITC	Apoptose	Cérebro	<i>In vitro</i>	10- 20 µM /24H	Zhu <i>et al.</i> , (2013)
PEITC	Apoptose	Mama	<i>In vitro</i>	10 µM /24H	Gupta <i>et al.</i> , (2012)
PEITC	Apoptose	Mama	<i>In vivo</i>	12 µmol/ 33 dias	Gupta <i>et al.</i> , (2012)
SFN	Apoptose	Próstata	<i>In vitro</i>	20 µM/ 24H	Li <i>et al.</i> , (2013)

2.2.4 Inibição da angiogénese

Durante o início da tumorigénese, a indução da angiogénese pelas células cancerígenas têm contribuído para a invasão dos tumores malignos. Vários estudos têm apontado que o grau de vascularização do tumor está diretamente relacionado com a probabilidade de desenvolver metástases, assim como da recorrência do cancro (Cavell, Syed Alwi, Donlevy, & Packham, 2011). De forma a travar este problema, a terapia anti-angiogénica tem sido considerada uma estratégia de tratamento sobre vários tipos de cancro.

Em vários estudos *in vitro* e *in vivo* tem-se comprovado que os ITC interferem na inibição da angiogénese. Analisou-se *in vitro* as células endoteliais da veia umbilical de forma a investigar a modulação da angiogénese, verificando-se que o sulforafano suprime a sua proliferação assim como a capacidade de formação destas células (Cavell *et al.*, 2011).

In vivo, constatou-se que a atividade anti-angiogénica dos ITC está diretamente relacionada com a produção reduzida de fatores pró-angiogénicos, tais como: o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), o óxido nítrico (NO₂) e o fator de necrose tumoral α (TNF α). Verificou-se que o sulforafano mostrou interferir na redução da densidade dos vasos sanguíneos de células transplantadas (Cavell *et al.*, 2011).

Boreddy *et al.*, (2011) analisaram num estudo *in vivo* em ratinhos, o efeito sobre as células pancreáticas cancerígenas quando expostas a uma dose de 12 μ mol de BITC durante aproximadamente 45 dias. Constatou-se que este isotiocianato é um potencial indutor da apoptose e para além disso, inibidor da angiogénese. Observou-se uma redução de 76% na concentração de hemoglobina e de 61% nos tumores excisados em xenografia quando comparados com os controlos.

Wang *et al.*, (2009) estudaram a atividade do PEITC sobre o cancro da mama. Tendo verificado que, com uma dose de 16 μ M durante 24 horas, as células vasculares foram inibidas por angiogénese.

A administração de 25 μ g AITC por ratinho (1mg/kg) inibiu a formação dos capilares surgindo a inibição da angiogénese (Gupta *et al.*, 2014).

Xiao *et.al*, (2007) investigaram *in vitro* o efeito do PEITC sobre células cancerígenas da próstata. Demonstrou-se que com uma dose de 4 μ M de PEITC durante um período de 24 horas houve uma diminuição da densidade dos vasos sanguíneos, impedindo assim que o tumor dissemine para outros tecidos.

Tabela 5: Efeito dos isotiocianatos na inibição da angiogénese (Adaptado de Gupta *et al.*, 2014).

Compostos	Atividade	Células	Ensaio	Dose/Duração	Autor
BITC	Anti-angiogénese	Pâncreas	<i>In vivo</i>	12 μ mol/ 40 dias	Boreddy <i>et al.</i> , (2011)
PEITC	Anti-angiogénese	Mama	<i>In vitro</i>	16 μ M / 24H	Wang <i>et al.</i> , (2009)
PEITC	Anti-angiogénese	Próstata	<i>In vitro</i>	4 μ M / 24H	Xiao <i>et al.</i> , (2007)

2.2.5. Inibição da desacetilação das histonas

As histonas são proteínas que se encontram no núcleo das células, ligadas diretamente ao DNA, pois a sua principal função é regular a expressão genética (Cunha Menditi & Kang, 2007).

Quando ocorre a acetilação das histonas através das enzimas histona acetil-transferase (HAT), o DNA está mais disponível para os fatores de transcrição, acabando estes por se ligar ao DNA e ativar a transcrição de genes. Por outro lado, a desacetilação das histonas pela histona desacetil-transferase (HDAC) impede o acesso dos fatores de transcrição ao DNA (Delage & Dashwood, 2008; Mei, Ho, & Mahlknecht, 2004).

Nesta relação entre a atividade da histona acetil-transferase e a histona desacetil-transferase as células normais podem ser afetadas transformando-se em células cancerosas (Marks, Richon, Miller, & Kelly, 2004).

Tendo em conta esta situação, são necessários compostos que bloqueiem as histonas desacetil-transferases de forma a impedir o desenvolvimento de cancro, através da indução da transcrição de proteínas supressoras de tumor resultando na diferenciação e apoptose de células pré-formadas (Marks *et. al*, 2004).

O alil isotiocianato (AITC) assim como o sulforafano (SFN) mostraram inibir a desacetilação das histonas sobre as células cancerígenas (Pledgie-Tracy, Sobolewski, & Davidson, 2007). Por outro lado, *in vivo*, verificou-se que o SFN inibiu a desacetilação das histonas em ratinhos transplantados com células malignas da próstata. Também já em humanos se comprovou que o consumo de 68g de brócolos ricos em sulforafano inibe a desacetilação das histonas em células sanguíneas (Myzak, Tong, Dashwood, Dashwood, & Ho, 2007).

2.2.6. Atividade Antioxidante

O stress oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção celular e a eliminação de espécies reativas de oxigénio (ROS), sendo visto como a sustentação na patogénese de várias doenças (Molina-vargas, 2013).

A vitamina C, a vitamina E e os carotenóides são considerados antioxidantes diretos, pois neutralizam os radicais livres de forma a evitar qualquer danificação nas células. Por outro lado, os glucosinolatos e os isotiocianatos são antioxidantes indiretos devido ao facto de atuarem sobre as enzimas de metabolização de fase I e fase II (Natella *et al.*, 2014; Vig *et al.*, 2009).

As enzimas de fase II como a glutathione S-transferase (GST), a glucuronosil-transferase (UGT) e a quinona redutase desempenham um papel crucial na proteção das células contra agentes externos, tais como agentes cancerígenos ou espécies reativas de oxigénio (ROS) (Kensler & Talalay, 2004). Os genes para estas e outras enzimas de fase II, incorporam uma sequência específica de DNA, chamada de elemento de resposta antioxidante (ARE). Os isotiocianatos, mais concretamente o sulforafano, aumentam a atividade de enzimas de fase II aumentando a transcrição de genes que contêm o elemento ARE, ficando as células mais protegidas (Dinkova-Kostova *et al.*, 2002).

De acordo com estudos clínicos recentes, uma alimentação rica em isotiocianatos contribui para o aumento da atividade destas enzimas. Verificou-se que o consumo de 170g por dia de agrião em indivíduos fumadores conduz a um aumento da excreção dos metabolitos de nicotina na urina, através do aumento da enzima UGT (Natella *et al.*, 2014).

Os antioxidantes adquiridos pela dieta, são mais favoráveis do que os adquiridos através de suplementos dietéticos, pois uma alimentação variada fornece uma complexidade de compostos fitoquímicos, ao contrário da que se encontra presente num suplemento (Liu, 2003; Natella *et al.*, 2014).

2.2.7. Atividade Anti-inflamatória

A inflamação ocorre, entre outros mecanismos, devido à ativação do fator de transcrição pró-inflamatório nuclear kappa B (NF-KB). Esta ativação está envolvida na resposta celular a estímulos como o stress, radicais livres e citocinas, quando há inflamação (Clarke *et al.*, 2008; Wagner, Terschluesen, & Rimbach, 2013).

A ativação do fator NF-KB vai promover a proliferação celular, a inibição da apoptose, a angiogénese e a sobrevivência das células, aumentando assim o risco de desenvolvimento de cancro. Como tal, a inibição do NF-KB tem sido alvo de estudo na prevenção do cancro (Steele, Hawk, Viner, & Lubet, 2003).

Tem sido demonstrado a inibição da atividade do fator de transcrição NF-KB com a administração de sulforafano (SFN) em células malignas da próstata e do cólon. Verificou-se que com a administração de 20µM de SFN durante uma hora, se inibiu o fator NF-KB (Clarke *et al.*, 2008; Higdon *et al.*, 2007).

Para além do sulforafano, o 2-feniletilisotiocianato (PEITC) também revelou atuar na diminuição da secreção de moléculas de sinalização inflamatória em células sanguíneas, através da redução da ligação do DNA com o fator de transcrição pró-inflamatório NF-KB (Gerhäuser *et al.*, 2003; Heiss, Herhaus, Klimo, Bartsch, & Gerhäuser, 2001).

3. EFEITOS ADVERSOS E INTERAÇÕES DOS ISOTIOCIANATOS

Apesar dos isotiocionatos serem compostos fundamentais para o bem-estar humano assim como para tratamento, é necessário ter em conta a forma como são utilizados, para que não ocorram situações inesperadas, como, efeitos adversos e interações.

A utilização das crucíferas para determinado fim terapêutico e a toma simultânea de fármacos, podem acarretar alguns inconvenientes. Muitas vezes a população não faz ideia das interações que podem ocorrer aquando da toma de ambos, em simultâneo, pois pensa-se que tudo o que é de origem natural, não provoca qualquer efeito inesperado. Porém, de uma maneira geral, as interações entre fármacos e plantas podem provocar alterações farmacológicas ou toxicológicas (Almeida, Carvalho, Coelho, & Freitas, 2013).

Relativamente aos humanos, não há evidências de qualquer efeito adverso grave com o consumo de isotiocianatos; mesmo durante a gravidez e/ou aleitamento não foram relatados quaisquer efeitos indesejados (Gupta *et al.*, 2014; Okazaki *et al.*, 2003).

De acordo com um estudo *in vitro*, verificou-se que o consumo elevado de 2-feniletilisotiocianato (PEITC) ou de benzil isotiocianato (BITC), cerca de 25-250 vezes superior à ingestão média de isotiocianatos, desenvolveu cancro de bexiga em ratinhos, quando administrados depois da exposição a um carcinogénio (Okazaki *et al.*, 2003).

Segundo Zhang (2010), o alil isotiocianato (AITC) em doses elevadas manifestou em ratinhos baixo grau de citotoxicidade e genotoxicidade. No entanto, em humanos não se verificou qualquer efeito adverso quando ingeridos pela dieta.

O uso concomitante de isotiocianatos com medicamentos, não tem revelado qualquer incompatibilidade. No entanto, os isotiocianatos podem inibir várias isoformas das enzimas CYP, podendo aumentar o potencial de interações com fármacos, que são substratos do CYP (Okazaki *et al.*, 2003).

CONCLUSÃO

De acordo com a pesquisa bibliográfica efetuada, verificou-se que existem estudos epidemiológicos que comprovam a eficácia dos isotiocianatos e dos seus respectivos precursores, os glucosinolatos na prevenção e/ou tratamento de patologias.

Pode-se afirmar que os isotiocianatos para além de apresentarem elevado potencial quimiopreventivo, também são eficazes contra as células cancerígenas já formadas. Verificou-se em estudos *in vivo* e *in vitro*, que os isotiocianatos contribuem na proteção das células contra danos no DNA, através da inativação de agentes cancerígenos.

Para além das atividades medicinais mencionadas nesta monografia, comprovou-se que estes compostos fitoquímicos revelam elevadas propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias. A maioria dos estudos com isotiocianatos são principalmente direcionados para a prevenção e/ou tratamento do cancro, doença mais mortífera do século. No futuro será necessário aprofundar estudos sobre outras atividades que os isotiocianatos poderão vir a manifestar e em que se tornem eficazes.

É necessário adotar medidas e comportamentos essenciais, de forma evitar o aparecimento de determinadas doenças. É fundamental alertar a população para as vantagens de uma dieta rica em alimentos como os brócolos, o agrião entre outros já referidos ao longo desta monografia, uma vez que apresentam compostos como os isotiocianatos, promissores para uma vida saudável.

O consumo de isotiocianatos dentro das quantidades aceitáveis, não acarreta qualquer problema para a saúde da população em geral. Devem no entanto, ser realizados estudos mais detalhados de forma a melhor estabelecer a segurança e eficácia destes compostos.

A utilização do BITC, PEITC, AITC e SFN como agentes quimioterápicos encontra-se em estudo através de inúmeros ensaios *in vitro* e ensaios clínicos que incluem a avaliação da biodisponibilidade e toxicidade.

BIBLIOGRAFIA

- Abbaoui, B., Riedl, K. M., Ralston, R. A., Thomas-ahner, J. M., & Steven, J. (2013). Inhibition of Bladder Cancer by Broccoli Isothiocyanates Sulforaphane and Erucin: Characterization, Metabolism and Interconversion, 56(11). doi:10.1002/mnfr.201200276.Inhibition
- Abdull Razis, A. F., & Noor, N. M. (2013). Cruciferous Vegetables: Dietary Phytochemicals for Cancer Prevention. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(3), 1565–1570. doi:10.7314/APJCP.2013.14.3.1565
- Aggarwal, B. B., & Ichikawa, H. (2005). Molecular Targets and Anticancer Potential of Indole-3-Carbinol and Its Derivatives. *Cell Cycle*, 4(9), 1201–1215. doi:10.4161/cc.4.9.1993
- Aires, A., Mota, V. R., Saavedra, M. J., Monteiro, a a, Simões, M., Rosa, E. a S., & Bennett, R. N. (2009). Initial in vitro evaluations of the antibacterial activities of glucosinolate enzymatic hydrolysis products against plant pathogenic bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 106(6), 2096–105. doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04181.x
- Almeida, A. A. C., Carvalho, R. B. F., Coelho, M. L., & Freitas, R. M. (2013). UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS PARA O TRATAMENTO DA DEPRESSÃO: UMA PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA. *Revista Gestão, Inovação E Tecnologias*, 3(2), 157–166. doi:10.7198/S2237-0722201300020013
- Batra, S., Sahu, R. P., Kandala, P. K., & Srivastava, S. K. (2010). Benzyl isothiocyanate-mediated inhibition of histone deacetylase leads to NF-kappaB turnoff in human pancreatic carcinoma cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, 9(6), 1596–608. doi:10.1158/1535-7163.MCT-09-1146

- Boreddy, S. R., Pramanik, K. C., & Srivastava, S. K. (2011). Pancreatic tumor suppression by benzyl isothiocyanate is associated with inhibition of PI3K/AKT/FOXO pathway. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 17(7), 1784–95. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-1891
- Boreddy, S. R., Sahu, R. P., & Srivastava, S. K. (2011). Benzyl isothiocyanate suppresses pancreatic tumor angiogenesis and invasion by inhibiting HIF- α /VEGF/Rho-GTPases: pivotal role of STAT-3. *PloS One*, 6(10), e25799. doi:10.1371/journal.pone.0025799
- Borges, A., Simões, L. C., Saavedra, M. J., & Simões, M. (2014). The action of selected isothiocyanates on bacterial biofilm prevention and control. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 86, 25–33. doi:10.1016/j.ibiod.2013.01.015
- Brocolinol 500mg (cápsulas). (n.d.). Retrieved from <http://www.acaciadeamericana.com.br/brocolinol-500mg-60-capsulas.html>
- Brown, J., & Morra, M. J. (2005). *Glucosinolate-Containing Seed Meal as a Soil Amendment to Control Plant Pests: 2000-2002*. Golden, CO. doi:10.2172/15016728
- Cardoso, R. ., Barrére, A. ., & Trovão, F. (2009). Saúde alimentar. *Educ Contin Saúde*, 7, 106–109.
- Cartea, M. E., & Velasco, P. (2007). Glucosinolates in Brassica foods: bioavailability in food and significance for human health. *Phytochemistry Reviews*, 7(2), 213–229. doi:10.1007/s11101-007-9072-2
- Castro, I. M. de, Anjos, M. R. dos, & Oliveira, E. dos S. de. (2008). Determinação de isotiocianato de benzila em Carica papaya utilizando cromatografia gasosa com detectores seletivos. *Química Nova*, 31(8), 1953–1959. doi:10.1590/S0100-40422008000800007

- Cavell, B. E., Syed Alwi, S. S., Donlevy, A., & Packham, G. (2011a). Anti-angiogenic effects of dietary isothiocyanates: mechanisms of action and implications for human health. *Biochemical Pharmacology*, 81(3), 327–36. doi:10.1016/j.bcp.2010.10.005
- Cavell, B. E., Syed Alwi, S. S., Donlevy, A., & Packham, G. (2011b). Anti-angiogenic effects of dietary isothiocyanates: mechanisms of action and implications for human health. *Biochemical Pharmacology*, 81(3), 327–36. doi:10.1016/j.bcp.2010.10.005
- Clarke, J. D., Dashwood, R. H., & Ho, E. (2008). Multi-targeted prevention of cancer by sulforaphane. *Cancer Letters*, 269(2), 291–304. doi:10.1016/j.canlet.2008.04.018
- Cunha Menditi, K. B., & Kang, H. C. (2007). O Papel das Proteínas Histonas nas Neoplasias Hematológicas, 53(4), 453–460.
- Davidson, R. K., Jupp, O., Ferrars, R., Kay, C. D., Culley, K. L., Norton, R., ... Clark, I. M. (2013). Sulforaphane represses matrix-degrading proteases and protects cartilage from destruction in vitro and in vivo. *Arthritis and Rheumatism*, 65(12), 3130–40. doi:10.1002/art.38133
- Delage, B., & Dashwood, R. H. (2008). Dietary manipulation of histone structure and function. *Annual Review of Nutrition*, 28, 347–66. doi:10.1146/annurev.nutr.28.061807.155354
- Dhingra, O. D., Costa, M. L. N., Silva, Jr., G. J., & Mizubuti, E. S. G. (2004). Essential oil of mustard to control *Rhizoctonia solani* causing seedling damping off and seedling blight in nursery. *Fitopatologia Brasileira*, 29(6). doi:10.1590/S0100-41582004000600017
- Dinkova-Kostova, A. T., Holtzclaw, W. D., Cole, R. N., Itoh, K., Wakabayashi, N., Katoh, Y., ... Talalay, P. (2002). Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(18), 11908–13. doi:10.1073/pnas.172398899

- Dinkova-Kostova, A. T., & Kostov, R. V. (2012). Glucosinolates and isothiocyanates in health and disease. *Trends in Molecular Medicine*, 18(6), 337–47. doi:10.1016/j.molmed.2012.04.003
- Dosz, E. B., Ku, K.-M., Juvik, J. a, & Jeffery, E. H. (2014). Total myrosinase activity estimates in brassica vegetable produce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(32), 8094–100. doi:10.1021/jf501692c
- Esteller, M. (2007). Epigenetic gene silencing in cancer: the DNA hypermethylation. *Human Molecular Genetics*, 16 Spec No, R50–9. doi:10.1093/hmg/ddm018
- Eunyoung, H. ., & Gun-Hee, K. . (2008). Anticancer and Antimicrobial Activities of β - Phenylethyl Isothiocyanate in Brassica rapa L . *Food Science Technology Res*, 14(4), 377–382.
- Fahey, J. W., Haristoy, X., Dolan, P. M., Kensler, T. W., Scholtus, I., Stephenson, K. K., ... Lozniewski, A. (2002). Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of Helicobacter pylori and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(11), 7610–5. doi:10.1073/pnas.112203099
- Figueiredo, S., Filho, S., Nogueira-Machado, J., & Caligorne, R. (2013). The Anti-Oxidant Properties of Isothiocyanates: A Review. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery*, 7(3), 213–225. doi:10.2174/18722148113079990011
- Gerber, B., Müller, H., Reimer, T., Krause, A., & Friese, K. (2003). Nutrition and lifestyle factors on the risk of developing breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 79(2), 265–76. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12825861>
- Gerhauser, C. (2013a). Cancer chemoprevention and nutriepigenetics: state of the art and future challenges. *Topics in Current Chemistry*, 329, 73–132. doi:10.1007/128_2012_360

- Gerhäuser, C. (2013b). Epigenetic impact of dietary isothiocyanates in cancer chemoprevention. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 16(4), 405–10. doi:10.1097/MCO.0b013e328362014e
- Gerhäuser, C., Klimo, K., Heiss, E., Neumann, I., Gamal-Eldeen, A., Knauf, J., ... Frank, N. (2003). Mechanism-based in vitro screening of potential cancer chemopreventive agents. *Mutation Research*, 523-524, 163–72. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12628514>
- Guo, Q., Guo, L., Wang, Z., Zhuang, Y., & Gu, Z. (2013). Response surface optimization and identification of isothiocyanates produced from broccoli sprouts. *Food Chemistry*, 141(3), 1580–6. doi:10.1016/j.foodchem.2013.04.026
- Gupta, P., Kim, B., Kim, S.-H., & Srivastava, S. K. (2014). Molecular targets of isothiocyanates in cancer: Recent advances. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(8), 1685–707. doi:10.1002/mnfr.201300684
- Gupta, P., & Srivastava, S. K. (2012). Antitumor activity of phenethyl isothiocyanate in HER2-positive breast cancer models. *BMC Medicine*, 10, 80. doi:10.1186/1741-7015-10-80
- Haristoy, X., Angioi-Duprez, K., Duprez, A., & Lozniewski, A. (2003). Efficacy of sulforaphane in eradicating *Helicobacter pylori* in human gastric xenografts implanted in nude mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(12), 3982–4. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=296232&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Hayes, J. D., Kelleher, M. O., & Eggleston, I. M. (2008). The cancer chemopreventive actions of phytochemicals derived from glucosinolates. *European Journal of Nutrition*, 47 Suppl 2, 73–88. doi:10.1007/s00394-008-2009-8

- Heijmans, B. T., Tobi, E. W., Stein, A. D., Putter, H., Blauw, G. J., Susser, E. S., ... Lumey, L. H. (2008). Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(44), 17046–9. doi:10.1073/pnas.0806560105
- Heiss, E., Herhaus, C., Klimo, K., Bartsch, H., & Gerhäuser, C. (2001). Nuclear factor kappa B is a molecular target for sulforaphane-mediated anti-inflammatory mechanisms. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(34), 32008–15. doi:10.1074/jbc.M104794200
- Higdon, J. V, Delage, B., Williams, D. E., & Dashwood, R. H. (2007). Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiologic evidence and mechanistic basis. *Pharmacological Research : The Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 55(3), 224–36. doi:10.1016/j.phrs.2007.01.009
- Hwang, E.-S., & Lee, H. J. (2006). Allyl isothiocyanate and its N-acetylcysteine conjugate suppress metastasis via inhibition of invasion, migration, and matrix metalloproteinase-2/-9 activities in SK-Hep 1 human hepatoma cells. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 231(4), 421–30. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16565438>
- Idealfarma. (n.d.). Menoless - Associação de nutracêuticos para a redução dos sintomas da menopausa e melhora do desejo sexual. Retrieved October 26, 2014, from <http://idealfarma.com.br/menoless.html>
- Ioannides, C., Hanlon, N., & Konsue, N. (2010). Isothiocyanates : A Chemical Class of Potential Nutraceuticals, 55–62.
- Kensler, T., & Talalay, P. (2004). *Inducers of Enzymes That Protect Against Carcinogens and Oxidants: Drug- and Food-Based Approaches with Dithiolethiones and Sulforaphane*. (G. J. Kelloff, E. T. Hawk, & C. C. Sigman, Eds.) (pp. 3–20). Totowa, NJ: Humana Press. doi:10.1007/978-1-59259-767-3

- Kumar, A., D'Souza, S. S., Tickoo, S., Salimath, B. P., & Singh, H. B. (2009). Antiangiogenic and proapoptotic activities of allyl isothiocyanate inhibit ascites tumor growth in vivo. *Integrative Cancer Therapies*, 8(1), 75–87. doi:10.1177/1534735408330716
- Latté, K. P., Appel, K.-E., & Lampen, A. (2011). Health benefits and possible risks of broccoli - an overview. *Food and Chemical Toxicology : An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 49(12), 3287–309. doi:10.1016/j.fct.2011.08.019
- Li, S.-H., Fu, J., Watkins, D. N., Srivastava, R. K., & Shankar, S. (2013). Sulforaphane regulates self-renewal of pancreatic cancer stem cells through the modulation of Sonic hedgehog-GLI pathway. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 373(1-2), 217–27. doi:10.1007/s11010-012-1493-6
- Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78(3 Suppl), 517S–520S. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12936943>
- Liu, R. H. (2004). Nutrition , and Cancer Potential Synergy of Phytochemicals in Cancer Prevention : Mechanism of Action. *American Society for Nutricional Sciences*, 3479–3485.
- Manchali, S., Chidambara Murthy, K. N., & Patil, B. S. (2012). Crucial facts about health benefits of popular cruciferous vegetables. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 94–106. doi:10.1016/j.jff.2011.08.004
- Marks, P. A., Richon, V. M., Miller, T., & Kelly, W. K. (2004). Histone deacetylase inhibitors. *Advances in Cancer Research*, 91(3), 137–68. doi:10.1016/S0065-230X(04)91004-4

- McKay, J. A., & Mathers, J. C. (2011). *Diet induced epigenetic changes and their implications for health. Acta physiologica (Oxford, England)* (Vol. 202, pp. 103–18). doi:10.1111/j.1748-1716.2011.02278.x
- Mei, S., Ho, A., & Mahlknecht, U. (2004). Role of histone deacetylase inhibitors in the treatment of cancer. *International Journal of Oncology*, 25(6), 1509–1519. doi:10.3892/ijo.25.6.1509
- Molina-vargas, L. F. (2013). Mechanism of action of isothiocyanates . A review
Mecanismo de acción de los isotiocianatos . Una revisión, 31(1), 68–75.
- Murillo, G., & Mehta, R. G. (2001). Cruciferous vegetables and cancer prevention. *Nutrition and Cancer*, 41(1-2), 17–28. doi:10.1080/01635581.2001.9680607
- Myzak, M. C., Tong, P., Dashwood, W.-M., Dashwood, R. H., & Ho, E. (2007). Sulforaphane retards the growth of human PC-3 xenografts and inhibits HDAC activity in human subjects. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 232(2), 227–34. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2267876&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Nakamura, Y., & Miyoshi, N. (2006). Cell death induction by isothiocyanates and their underlying molecular mechanisms. *BioFactors (Oxford, England)*, 26(2), 123–34. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16823098>
- Natella, F., Maldini, M., Leoni, G., & Scaccini, C. (2014). Glucosinolates redox activities: can they act as antioxidants? *Food Chemistry*, 149, 226–32. doi:10.1016/j.foodchem.2013.10.134
- Normark, S., Nilsson, C., Normark, B. H., & Hornef, M. W. (2003). Persistent infection with *Helicobacter pylori* and the development of gastric cancer. *Advances in Cancer Research*, 90, 63–89. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14710947>

- Okazaki, K., Umemura, T., Imazawa, T., Nishikawa, A., Masegi, T., & Hirose, M. (2003). Enhancement of urinary bladder carcinogenesis by combined treatment with benzyl isothiocyanate and N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine in rats after initiation. *Cancer Science*, 94(11), 948–52. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14611670>
- Overby, A., Zhao, C.-M., & Chen, D. (2014). Plant phytochemicals: potential anticancer agents against gastric cancer. *Current Opinion in Pharmacology*, 19C, 6–10. doi:10.1016/j.coph.2014.05.010
- Packman, G. (2010). Composto do agrião pode desligar o sinal do cancro de mama. Retrieved October 28, 2014, from <http://www.isaude.net/pt-BR/noticia/11148/ciencia-e-tecnologia/composto-do-agriao-pode-desligar-o-sinal-do-cancer-de-mama#>
- Padilha, P. D. C., & Pinheiro, R. D. L. (2004). O Papel dos Alimentos Funcionais na Prevenção e Controle do Câncer de Mama, 50(3), 251–260.
- Pappa, G., Lichtenberg, M., Iori, R., Barillari, J., Bartsch, H., & Gerhäuser, C. (2006). Comparison of growth inhibition profiles and mechanisms of apoptosis induction in human colon cancer cell lines by isothiocyanates and indoles from Brassicaceae. *Mutation Research*, 599(1-2), 76–87. doi:10.1016/j.mrfmmm.2006.01.007
- Peng, Y., Bao-an, C., & De-long, L. I. U. (2008). Anticancer Mechanisms and Researches of Isothiocyanates. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 6(5), 325–332. doi:10.1016/S1875-5364(09)60027-3
- Pintão, A. M., Pais, M. S., Coley, H., Kelland, L. R., & Judson, I. R. (1995). In vitro and in vivo antitumor activity of benzyl isothiocyanate: a natural product from *Tropaeolum majus*. *Planta Medica*, 61(3), 233–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7617765>

- Pledge-Tracy, A., Sobolewski, M. D., & Davidson, N. E. (2007). Sulforaphane induces cell type-specific apoptosis in human breast cancer cell lines. *Molecular Cancer Therapeutics*, 6(3), 1013–21. doi:10.1158/1535-7163.MCT-06-0494
- Saw, C. L.-L., Cintrón, M., Wu, T.-Y., Guo, Y., Huang, Y., Jeong, W.-S., & Kong, A.-N. T. (2011). Pharmacodynamics of dietary phytochemical indoles I3C and DIM: Induction of Nrf2-mediated phase II drug metabolizing and antioxidant genes and synergism with isothiocyanates. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 32(5), 289–300. doi:10.1002/bdd.759
- Singh, S. V, & Singh, K. (2012). Cancer chemoprevention with dietary isothiocyanates mature for clinical translational research. *Carcinogenesis*, 33(10), 1833–42. doi:10.1093/carcin/bgs216
- Singh, S. V, Srivastava, S. K., Choi, S., Lew, K. L., Antosiewicz, J., Xiao, D., ... Herman-Antosiewicz, A. (2005). Sulforaphane-induced cell death in human prostate cancer cells is initiated by reactive oxygen species. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(20), 19911–24. doi:10.1074/jbc.M412443200
- Steele, V. E., Hawk, E. T., Viner, J. L., & Lubet, R. A. (2003). Mechanisms and applications of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the chemoprevention of cancer. *Mutation Research*, 523-524, 137–44. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12628511>
- Stewart, Z. A., Westfall, M. D., & Pietenpol, J. A. (2003). Cell-cycle dysregulation and anticancer therapy. *Trends in Pharmacological Sciences*, 24(3), 139–45. doi:10.1016/S0165-6147(03)00026-9
- Suppipat, K., Park, C. S., Shen, Y., Zhu, X., & Lacorazza, H. D. (2012). Sulforaphane induces cell cycle arrest and apoptosis in acute lymphoblastic leukemia cells. *PloS One*, 7(12), e51251. doi:10.1371/journal.pone.0051251
- Vieira, M. (2011). Nabo e Nabíça: uma origem, destinos diferentes, mais proteção.

- Vig, A. P., Rampal, G., Thind, T. S., & Arora, S. (2009a). Bio-protective effects of glucosinolates – A review. *LWT - Food Science and Technology*, 42(10), 1561–1572. doi:10.1016/j.lwt.2009.05.023
- Wagner, A. E., Terschluessen, A. M., & Rimbach, G. (2013). Health promoting effects of brassica-derived phytochemicals: from chemopreventive and anti-inflammatory activities to epigenetic regulation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–12. doi:10.1155/2013/964539
- Wang, X.-H., Cavell, B. E., Syed Alwi, S. S., & Packham, G. (2009). Inhibition of hypoxia inducible factor by phenethyl isothiocyanate. *Biochemical Pharmacology*, 78(3), 261–72. doi:10.1016/j.bcp.2009.04.010
- Wilson, A. E., Bergaentzlé, M., Bindler, F., Marchioni, E., Lintz, A., & Ennahar, S. (2013). In vitro efficacies of various isothiocyanates from cruciferous vegetables as antimicrobial agents against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Food Control*, 30(1), 318–324. doi:10.1016/j.foodcont.2012.07.031
- Wu, X., Zhou, Q., & Xu, K. (2009). Are isothiocyanates potential anti-cancer drugs? *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(5), 501–12. doi:10.1038/aps.2009.50
- Wu, X., Zhu, Y., Yan, H., Liu, B., Li, Y., Zhou, Q., & Xu, K. (2010). Isothiocyanates induce oxidative stress and suppress the metastasis potential of human non-small cell lung cancer cells. *BMC Cancer*, 10, 269. doi:10.1186/1471-2407-10-269
- Xiao, D., & Singh, S. V. (2007). Phenethyl isothiocyanate inhibits angiogenesis in vitro and ex vivo. *Cancer Research*, 67(5), 2239–46. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-3645
- Xu, C., Shen, G., Yuan, X., Kim, J.-H., Gopalkrishnan, A., Keum, Y.-S., ... Kong, A.-N. T. (2006). ERK and JNK signaling pathways are involved in the regulation of activator protein 1 and cell death elicited by three isothiocyanates in human prostate cancer PC-3 cells. *Carcinogenesis*, 27(3), 437–45. doi:10.1093/carcin/bgi251

- Zhang, Y. (2010). Allyl isothiocyanate as a cancer chemopreventive phytochemical. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(1), 127–35. doi:10.1002/mnfr.200900323
- Zhang, Y. (2012). The molecular basis that unifies the metabolism, cellular uptake and chemopreventive activities of dietary isothiocyanates. *Carcinogenesis*, 33(1), 2–9. doi:10.1093/carcin/bgr255
- Zhang, Y., Yao, S., & Li, J. (2007). Vegetable-derived isothiocyanates: anti-proliferative activity and mechanism of action. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65(01), 68–75. doi:10.1079/PNS2005475
- Zhu, Y., Zhuang, J.-X., Wang, Q., Zhang, H.-Y., & Yang, P. (2013). Inhibitory effect of benzyl isothiocyanate on proliferation in vitro of human glioma cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 14(4), 2607–10. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23725183>